

第 332 回雑誌会

(Jul. 17, 2020)

(1) Application of digital PCR and next generation sequencing in the etiology investigation of a foodborne disease outbreak caused by *Vibrio parahaemolyticus*

Li, Y., Zhang, S., Li, J., Chen, M., He, M., Wang, Y., Zhang, Y., Jing, H., Ma, H., Li, Y., Zhao, L., Zhao, H., Kan, B. and Pang, B.

Food Microbiology, **84**, (2019).

Reviewed by H. Shimizu

腸炎ビブリオによる感染症は、細菌性下痢疾患の主な要因の一つである。腸炎ビブリオは通常、シーフードや海洋環境から検出される。しかしながら、交差汚染された食品試料中に存在する腸炎ビブリオについての情報は少ない。そこで本研究では、食品試料と糞便試料を対象に、NGS 法やデジタル PCR 法などの遺伝子解析手法を用いることによって、腸炎ビブリオの多様性の調査と病原性腸炎ビブリオの定量を行った。調査は、交差汚染の疑いがある食品（ドライブ）と 3 人の下痢患者の糞便を対象とした。試料をアルカリペプトン水に添加し、増菌処理を行った後、CHROMagar 寒天培地で培養した。その後、TSI 培地で培養を行った食品試料の分離株 100 株と糞便試料の分離株 15 株を用いて、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）分析を行い、分離株の遺伝子の類似性を評価した。また、腸炎ビブリオの多様性の調査するため、食品試料の分離株 7 株と糞便試料の分離株 3 株から DNA を抽出し、次世代シーケンサーによるメタゲノム解析を行った。多様性は、腸炎ビブリオの RIMD2210633 株と得られたデータを比較して、SNP（Single Nucleotide Polymorphism）を同定することで評価した。さらに、増菌前と増菌後の食品試料から DNA を抽出し、デジタル PCR 法で病原性腸炎ビブリオの定量を行った。対象遺伝子は腸炎ビブリオの非病原性遺伝子である *toxR* および病原性遺伝子の *tdh* とした。

PFGE 分析の結果、糞便試料については PFGE パターンに違いが見られなかった。一方で、食品試料については 6 種類の PFGE パターンが確認された。多様性を評価するためのメタゲノム解析を行ったところ、食品試料では 9,000 を超える SNP が同定された。糞便試料において同定された SNP は 140 であった。このことから、食品試料における腸炎ビブリオの多様性は豊かであることがわかった。食品試料の DNA 抽出物を対象にデジタル PCR 法で腸炎ビブリオの遺伝子を定量したところ、*toxR* と *tdh* の濃度は増菌前の試料で 2347.63 copies/μl と 74.75 copies/μl であった。また、増菌後の濃度は、4886.43 copies/μl と 7.88 copies/μl であった。以上のことから、NGS 法やデジタル PCR 法を用いることによって、腸炎ビブリオの多様性および病原性腸炎ビブリオの定量を行うことが可能であり、感染対策への貢献が期待できる。

(2) Coagulation of Alkalinized Municipal Wastewater Using Seawater Bittern

Ayoub, G. M., Merehbi, F., Abdallah, R., Acra, A., Fadel, and M. E.

Water Environment Research, **71**, 4, (1999).

Reviewed by T. Yadaï

軟化処理は、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} を含む排水にアルカリ剤を加え、水酸化物の沈殿を発生させることによって、処理水中の硬度を下げる方法である。海水中の Mg^{2+} が凝集剤としての作用を持つため、海水を凝集剤として用いる軟化処理法が検討されてきた。しかしながら、海水の添加による総溶解固形物量 (TDS) の増加が問題となる。そこで本研究では、凝集作用がある Mg^{2+} を多量に含む液体苦汁 (LB) を用いて、都市下水の軟化処理を検討した。また、固体苦汁 (DB) と海水 (SW) について、LB との処理性能を比較した。試料は、Beirut と Bakfaya に位置する下水処理施設の流入下水とした。アルカリ剤には、 $Ca(OH)_2$ と NaOH を用いた。SW を凝集剤として用いた場合は、アルカリ剤を加えた都市下水 (1.75-1.95 L) と SW (0.05-0.25 L) を混合させて合計 2 L にした。LB と DB を用いた場合は、アルカリ剤を加えた都市下水 2 L に LB (1.2-6.0 mL) と DB (23.5-117.5 mL) を添加した。続いて、ジャーテスターに設置し、135 rpm で 1 分、23 rpm で 20 分攪拌した後、30 分静置させた。そして、上澄み水を採取した。測定項目は、濁度、化学的酸素要求量 (COD)、総浮遊固形物 (TSS)、TDS、大腸菌群数 (T.C.)、糞便性大腸菌数 (F.C.) である。さらに、 CO_2 の注入による中性化も検討した。

$Ca(OH)_2$ の場合、濁度、COD、TSS の最高除去率は Mg^{2+} が 167 mg/L のときで、それぞれ 99.2、78.4、96.6% であった。NaOH の場合、 Mg^{2+} が 175 mg/L のときに最も除去率が高く、それぞれ 99.0、78.7、98.3% であった。このとき、TDS の増加率も最小であり、 $Ca(OH)_2$ と NaOH で、それぞれ 88% と 126% であった。 $Ca(OH)_2$ の場合、T.C. は 110,000 cfu/mL から 0 cfu/mL に、F.C. は 45,000 cfu/mL から 0 cfu/mL に減少した。一方の NaOH の場合では、T.C. は 40,000 cfu/mL から 7 cfu/mL に、F.C. は 10,000 cfu/mL から 4 cfu/mL に減少した。また、処理水の中性化に必要な CO_2 注入量は、 $Ca(OH)_2$ と NaOH で、それぞれ 56 mL/L と 210 mL/L であった。 $Ca(OH)_2$ の方が NaOH と比較して、TDS の増加率が低く、 CO_2 注入量も少なかった。そこで、 $Ca(OH)_2$ を用いて、SW、LB、DB による処理性能を比較した。その結果、LB は TDS 増加率が最も低く、53% であった。この増加率は、SW の 1/8、DB の 1/2 の値に相当する。したがって、LB は凝集剤として最も適していることがわかった。以上より、 $Ca(OH)_2$ と LB を用いた処理方法が最適である。